

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Ivana Križić

Kemijski sastav i funkcionalna svojstva aronije

završni rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

Nastavni predmet
Funkcionalna hrana i dodaci prehrani

Kemijski sastav i funkcionalna svojstva aronije
Završni rad

Mentor: prof. dr. sc. Daniela Čačić Kenjeric

Studentica: Ivana Križić

MB: 3761/13

Mentor: prof. dr. sc. Daniela Čačić Kenjeric

Predano (datum):

Pregledano (datum):

Ocjena:

Potpis mentora:

Kemijski sastav i funkcionalna svojstva aronije

Sažetak:

Aronija je vrsta bobičastog voća koja posjeduje nutritivna svojstva zbog kojih je poželjna u ljudskoj prehrani. Osim u svježem stanju na tržištu je prisutna u raznim prerađenim oblicima poput soka, džema, mješavina za čaj i alkoholnih pića. Vrsta koja se najviše konzumira i istražuje je *Aronia melanocarpa*. Svrstava se među vodeće vrste voća u ukupnom sadržaju polifenola zbog kojih joj se pripisuju snažna antioksidacijska svojstva. Obrana organizma od oksidacijskog stresa igra bitnu ulogu u prevenciji opasnih bolesti današnjice kao što su karcinom, bolesti srca i krvožilnog sustava te dijabetes. Proantocijanidini i antocijanini čine najveći udio u sadržaju ukupnih polifenola i antiradikalnoj aktivnosti. U dosada provedenim znanstvenim istraživanjima najčešće su korišteni sokovi i izolirani ekstrakti. Potrebna su daljnja ispitivanja kako bi se potvrdila njihova terapijska vrijednost. Aronija predstavlja funkcionalnu namirnicu koja postaje sve češći dio prehrambenih navika ljudi.

Ključne riječi: aronija, polifenoli, antioksidacijsko djelovanje, karcinom, dijabetes, kardiovaskularne bolesti, funkcionalna hrana

Chemical composition and functional properties of chokeberry

Summary:

Chokeberry is type of berry fruit desirable in human diet because of its nutritional properties. There are many chokeberry products available on market such as juices, dried fruit for tea, jams, alcoholic drinks, etc. *Aronia melanocarpa* is the most scientifically analyzed and consumed species. It is one of the plants with the biggest percent of polyphenolics. As a result it possesses high antioxidant capacity. Protecting organism from oxidative stress can affect on preventing the most threatening diseases such as cancer, cardiovascular diseases and diabetes. In total antiradical activity and total polyphenolics, anthocyanins and proanthocyanidins are the most present compounds. Juices and isolated extracts are the most common forms used in scientific researches. Further studies are necessary to confirm their therapeutic value. Chokeberry is functional food which is becoming more popular in human diet.

Keywords: chokeberry, polyphenols, antioxidant activity, cancer, diabetes, cardiovascular diseases, functional food

Sadržaj

1. UVOD	1
2. GLAVNI DIO	3
2.1. BOTANIČKA SVOJSTVA I RASPROSTRANJENOST ARONIJE	4
2.2. KEMIJSKI SASTAV I SVOJSTVA ODABRANIH KOMPONENATA ARONIJE	6
2.2.1. Fenoli i polifenoli	6
2.2.1.1. Uloga polifenola u aroniji	7
2.2.1.2. Sadržaj fenolnih komponenti u aroniji	7
2.2.1.3. Sadržaj polifenola u raznim prerađevinama	10
2.2.1.4. Čimbenici koji utječu na koncentraciju polifenola	10
2.2.2. Vitamini	11
2.2.3. Minerali	12
2.3. ZDRAVSTVENI ASPEKTI KONZUMACIJE ARONIJE	14
2.3.1. Antioksidacijska svojstva	14
2.3.1.1. Procjena antioksidacijske aktivnosti.....	15
2.3.2. Utjecaj na specifična zdravstvena stanja	17
2.3.2.1. Aronija i bolesti srca i krvožilnog sustava	17
2.3.2.2. Aronija i dijabetes	18
2.3.2.3. Aronija i karcinom.....	19
2.3.3. Aronija kao funkcionalna hrana	20
3. ZAKLJUČAK	22
4. LITERATURA	24

1. UVOD

Aronija pripada skupini jagodastog voća čiji se plodovi koriste svježi, zamrznuti, sušeni ili prerađeni u razne proizvode i poluproizvode poput džemova, sokova i vina. Koristi se i kao prirodno bojilo za hranu, te kao ukrasna biljka (Kokotkiewicz i sur., 2010.).

Bobice aronije su naročito cijenjene zbog specifičnog nutritivnog sastava kojim dominiraju antioksidansi. Zahvaljujući tome plijeni pozornost te je sve više istraživanja usmjereno na njihov potencijalni pozitivan učinak na zdravlje ljudi. Većina spomenutih istraživanja je usredotočena na zaštitno djelovanje flavonoida u razvoju bolesti srca i kardiovaskularnog sustava, te prevenciju raka (Oszmiański i Wojdylo, 2005.).

Cilj ovog rada je dati uvid u dosadašnja saznanja o aroniji, njenim botaničkim svojstvima, rasprostranjenosti i kemijskom sastavu usmjerenom na polifenolne komponente zbog kojih joj se pridaju antimutagena, kardioprotektivna, hepatoprotektivna, protuupalna, imunostimulacijska svojstva. Slijedi opis uloge aronije u suzbijanju najraširenijih i najopasnijih bolesti današnjice potkrijepljene znanstvenim dokazima. Biti će prezentiran i njen potencijal u proizvodnji funkcionalne hrane čiju vrijednost potrošači sve više prepoznaju.

2. GLAVNI DIO

2.1. BOTANIČKA SVOJSTVA I RASPROSTRANJENOST ARONIJE

Aronija je grmovita listopadna biljka koja pripada porodici Rosaceae. Dvije su osnovne vrste aronije: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot i *Aronia arbutifolia* (L.) Pers., a u literaturi se često navodi i treća *Aronia prunifolia* koja je hibrid prethodno navedenih (Lupascu i sur., 2016.). Međutim najpoznatija i najviše uzgajana je *Aronia melanocarpa* tzv. crnoplodna aronija čiji grm doseže visinu do 3 metra, te dužinu od 2,5 metra. Nakon razvoja ovalnih listova nazubljenog ruba dolazi do pojave prvih cvjetova bijele boje koji se sakupljaju u grozdove (**Slika 1**). Cvatnja počinje u svibnju i traje 10-ak dana (Siroglavić, 2015.).



Slika 1 Aronija u fazi cvatnje i formiranja ploda

Plodovi su sitni, jabučastog oblika težine 1,0-1,5 g. Dozrijevaju tijekom kolovoza, a zreo plod, prikazan na **Slici 2**, karakterizira intenzivna ljubičasto crvena boja izvana te crvena iznutra. Kiselkasto trpki okus svježih plodova često predstavlja problem potrošačima, te je jedan od

razloga prerade u prihvatljivije oblike. Ukoliko se radi o sokovima tada u obzir dolazi kombiniranje sa sokovima jabuke, kruške i raznog bobičasto voća (Kulling i Rawel, 2008.).



Slika 2 Zreli plodovi crnoplodne aronije

Aronia melanocarpa potječe iz Sjeverne Amerike gdje su domoroci koristili njezine bobice, listove i koru u pripravi čajeva za prehladu. U 19. st. pojavljuje se u Rusiji, odakle se širi na druge države Istočne i Sjeverne Europe (Poljska, Češka, Ukrajina, Švedska) gdje se i danas intenzivno uzgaja i cijeni (Kokotkiewicz i sur., 2008.). Uspjeva u različitim klimatskim uvjetima, na manje plodnom tlu, a podnosi i niske temperature što je čini iznimno zahvalnom za uzgoj. Ekstrak aronije je pronašao primjenu i kao prirodno bojilo u proizvodnji želea, bombona, jogurta, aromatiziranog mlijeka i drugih prehrambenih proizvoda (Krivak, 2010.). Iako u Hrvatskoj nema dugu tradiciju uzgoja, broj proizvođača kao i asortiman različitih prerađevina iz godine u godinu raste.

2.2. KEMIJSKI SASTAV I SVOJSTVA ODABRANIH KOMPONENATA ARONIJE

Aronija se smatra izuzetno ljekovitom zbog svog specifičnog kemijskog sastava koji ovisi o velikom broju čimbenika kao što su klimatski uvjeti uzgoja, tlo, vlažnost, stupanj zrelosti u trenutku branja. Stoga se i literaturni podaci o količini pojedinih komponenata donekle razlikuju. Kao gotovo svo voće bogato vodom i aronija ima nisku energetska vrijednost. Udio reducirajućih šećera (glukoza, fruktoza) iznosi 13-18 %, dok saharoza nije detektirana. Prisutan je sorbitol, šećerni alkohol koji se koristi kao zamjena za šećer. Udio masti iznosi prosječno 0,14 %, a proteina 0,7 %. Količina ukupnih organskih kiselina je niska u usporedbi s drugim voćem, a kreće se od 1 do 1,5 %. Detektirana je prisutnost prehrambenih vlakana u količini od 5,62 g/100 g svježeg voća uz sadržaj pektina od 0,3 do 0,6 %. Bogatstvo aroma se može najviše zahvaliti prisustvu amigdalina gorkastog okusa i blagog mirisa na bademe, te oporim taninima (Kulling i Rawel, 2008.).

Bitno je istaknuti bogatstvo raznim polifenolnim komponentama zbog kojih im se pripisuje moguće farmakološko djelovanje kao i visoke udjele vitamina i minerala što će biti detaljnije opisano u daljnjem tekstu.

2.2.1. Fenoli i polifenoli

Fenoli i polifenoli su biološki aktivni sekundarni produkti metabolizma biljaka. Smatraju se neesencijalnim za ljudski organizam. Osim što daju karakterističnu poželjnu boju voću, vrše i mnogobroje korisne funkcije u samoj biljci. Fenoli sadrže jedan aromatski prsten na koji je vezana barem jedna hidroksilna skupina, dok polifenoli sadrže više aromatskih prstenova, a samim time i više hidroksilnih skupina. Mogu biti vrlo kompleksne građe nastale polimeriziranjem i vezanjem šećera na različite pozicije u molekuli. Polifenoli su široko rasprostranjena skupina, nalaze se gotovo u svim dijelovima biljaka, a najzastupljeniji i najviše istraživani među njima su flavonoidi koji sadrže dva aromatska prstena spojena mostom od tri ugljikova atoma. Postoje razne podjele flavonoida, a najčešće se koristi podjela na sljedeće podskupine: flavononi, flavoni, flavonoli, izoflavonoidi, antocijani i flavani (Webb, 2006.). Bitno je spomenuti i fenolne kiseline kao jednu od važnijih skupina polifenola, najčešće su prisutne kao derivati benzojeve (p-hidroksibenzojeva kiselina, siringinska, galna,

elaginska) ili cimetne kiseline (hidroksicimetne kiseline: p-kumarinska, kafeinska, ferulinska, sinapinska).

Kako bi ostvarili svoje djelovanje u organizmu, polifenoli se najprije trebaju resorbirati u probavnom traktu. Tijekom probave se odvijaju razne promjene ovisne o njihovoj stabilnosti. Na samu resorpciju utječe unesena količina, struktura biološki aktivnih spojeva, stupanj biokonverzije, matriks voća tj. prisutnost drugih fenolnih spojeva, polisaharida i proteina, te genetski čimbenici (Jakobek, 2007.).

U sljedećim odjeljcima biti će opisano djelovanje polifenolnih spojeva u životu biljke, zatim koncentracije polifenola u bobicama aronije i raznim prerađevinama. Uz to će biti predstavljeni i faktori koji utječu na njihov udio.

2.2.1.1. Uloga polifenola u aroniji

Biljke se štite od nepovoljnih vanjskih uvjeta producirajući sekundarne metabolite tj. spojeve koji mogu biti derivati polifenola. Ti spojevi tada mogu imati antibakterijsko i antifungalno djelovanje, te mogu utjecati na okus ili činiti samu boju biljnih organa (Henry i Heppell, 1998.). Antocijani pružaju karakterističnu boju cvjetovima i bobicama (ljubičasta, plava) čime je omogućeno privlačenje kukaca i ptica koji sudjeluju u oprašivanju i rasprostranjivanju sjemena. Također imaju sposobnost zaštite od UV zračenja. Kao jedan način obrambenog mehanizma u borbi protiv mikroorganizama polifenoli se nakupljaju u obliku fitoaleksina (Jakobek, 2007.). Fenolne kiseline mogu sudjelovati u procesu zacjeljivanja oštećenih dijelova biljke. Iz navedenog se može zaključiti kako polifenoli omogućavaju normalan rast i razvoj biljke pružajući joj potrebnu zaštitu (Kondakova i sur., 2009.).

2.2.1.2. Sadržaj fenolnih komponenti u aroniji

Kvalitativna i kvantitativna analiza fenolnih komponenti u aroniji je veoma bitna jer uz pomoć nje možemo predvidjeti samo djelovanje aronije na ljudski organizam uzevši u obzir bioraspoloživost komponenti. Također, uz pomoć tih podataka aroniju možemo usporediti s drugim namirnicama sličnog sastava.

Rezultati identifikacije fenolnih spojeva prikazani u **Tablici 1** ukazuju na visok sadržaj proantocijanidina u količini koja zauzima 66 % ukupnih polifenola (Oszmiański i Wojdyło, 2005.).

Tablica 1 Fenolne komponente u bobicama aronije (Oszmiański i Wojdyło, 2005.)

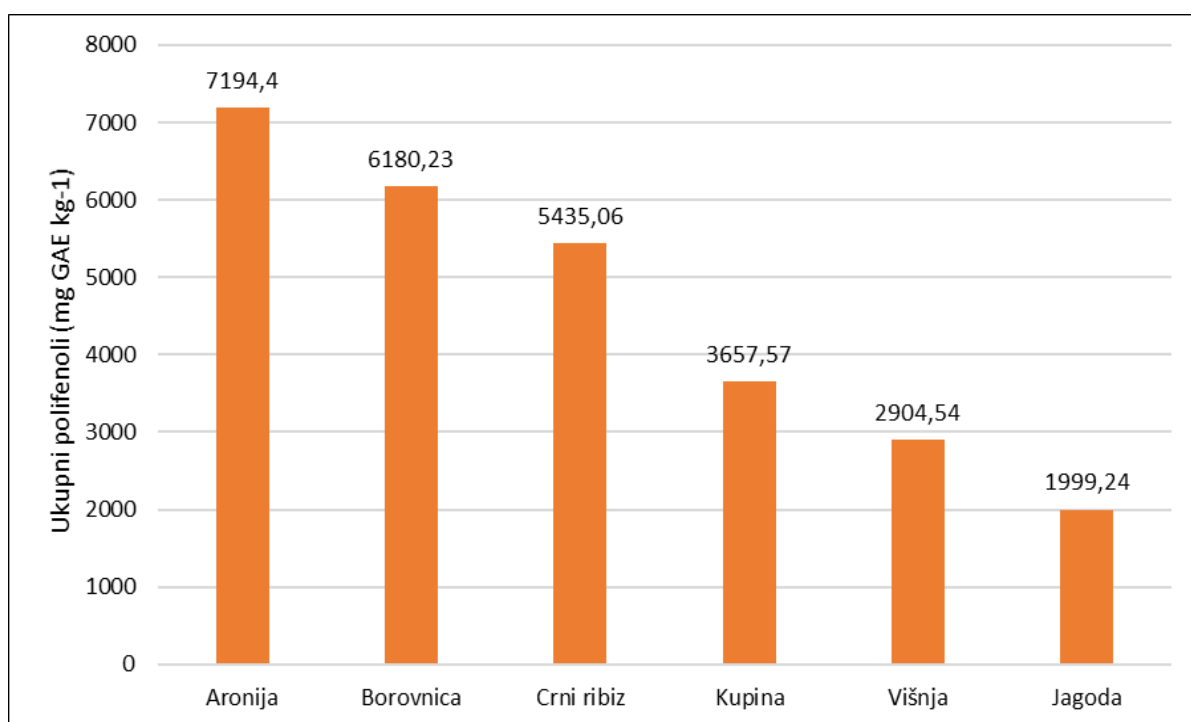
Skupina polifenola	Komponenta	Količina komponente (mg/100 g suhe tvari)
Flavani	Proantocijanidini	5181,6
Fenolne kiseline	Klorogenska kiselina	301,85
	Neoklorogenska kiselina	290,81
Flavonoli	Kvercetin-3-galaktozid	36,98
	Kvercetin-3-glukozid	21,64
	Kvercetin-3-rutinozid	15,1
	Derivati kvercetina (neidentificirani)	27,43
Antocijanini	Cijanidin-3-galaktozid	1282,41
	Cijanidin-3-arabinozid	581,5
	Cijanidin-3-ksilozid	52,71
	Cijanidin-3-glukozid	42,14

Proantocijanidini su oligomeri i polimeri čija je glavna gradivna jedinica (epi)katehin (Kulling i Rawel, 2008.). Od antocijanina kao sljedeće skupine po zastupljenosti identificirana su četiri oblika cijanidina: cijanidin-3-galaktozid, cijanidin-3-arabinozid, cijanidin-3-ksilozid i cijanidin-3-glukozid. Cijanidin-3-galaktozid i cijanidin-3-arabinozid su zastupljeni u velikim količinama u usporedbi s druga dva. Fenolne kiseline čine oko 7,5 % polifenolnog sastava aronije s dva glavna predstavnika klorogenskom kiselinom i neoklorogenskom kiselinom koji su derivati cimetine kiseline. Flavonoli su zastupljeni u niskom udjelu s obzirom na druge polifenolne komponente. U najvećoj količini je prinađen kvercetin, odnosno njegovi derivati: kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-rutinozid (Oszmiański i Wojdyło, 2005.). Prema drugim literaturnim podacima u aroniji je identificirano pet različitih derivata

kvercetina (Kulling i Rawel, 2008.). Pronađen je i kempferol, ali u puno manjoj količini u usporedbi s kvercetinom (Jakobek, 2007.).

Ispitivanje sadržaja fenolnih tvari se može vršiti uz pomoć različitih analitičkih metoda. Samim time, kao i uslijed razlika uzrokovanih uvjetima rasta biljke i stupnja zrelosti ploda, može doći i do razlika u literaturnim podacima o sadržaju komponenti. U **Tablici 1** prikazani su rezultati dobiveni pomoću visoko djelotvorne tekućinske kromatografije (HPLC metoda) (Oszmiański i Wojdyło, 2005.).

Uspoređujući aroniju s drugim voćem bogatim polifenolima (**Slika 3**) na temelju rezultata dobivenih Folin-Ciocalteu mikro metodom vidljivo je da se ističe u ukupnom sadržaju polifenola te samim time ostavlja iza sebe borovnicu, kupinu, višnju, crni ribiz i jagodu (Jakobek, 2007.).



Slika 3 Ukupni polifenoli određeni Folin-Ciocalteu mikro metodom u različitim vrstama voća (Jakobek, 2007.)

2.2.1.3. Sadržaj polifenola u raznim prerađevinama

Uključivanje aronije u prehranu ljudi predstavlja velik problem zbog kiselog okusa i oporosti koja se javlja pri konzumaciji plodova. Stoga se razvijaju brojni proizvodi kojima je cilj ublažiti ili zamaskirati neugodnu aromu i samim time približiti aroniju potrošačima. Danas je na tržištu RH prisutan velik broj različitih prerađevina u obliku napitaka (sokovi, vino, sirup), džemova, kompota, sušenih bobica, praha. Najbolje prikrivanje okusa postignuto je suplementima u obliku kapsula.

U istaživanju procjene sadržaja ukupnih fenolnih komponenti i ukupnih flavonoida utvrđeno je da kapsule, prah i sokovi sadrže veće količine fenolnih komponenti u odnosu na osušeni i samljeveni ostatak nakon proizvodnje soka (za pripremu čaja) i sušene bobice. Najbrojniji predstavnici fenolnih komponenti su flavonoidi s najvećim količinama pronađenim u soku aronije (u prosjeku 3180 mg GAE L⁻¹). U **Tablici 2** prikazane su prosječne vrijednosti izražene kao mg GAE na L soka, odnosno mg GAE na 100 g suhe tvari za ostale proizvode (Tolić i sur., 2015.).

Tablica 2 Prosječan sadržaj ukupnih fenolnih komponenti i flavonoida u proizvodima od aronije (Tolić i sur., 2015.)

Proizvod	Ukupne fenolne komponente	Ukupni flavonoidi
Sok	4416	3180
Prah	4539	2825
Kapsule	4902	2726
Mješavina za čaj	2217	1286
Sušene bobice	2210	1131

2.2.1.4. Čimbenici koji utječu na koncentraciju polifenola

Kao posljedica varijacija u podacima o sadržaju polifenolnih komponenti navode se brojni razlozi. Jedan od njih su uvjeti uzgoja biljke koji se mogu podijeliti na klimatske i agronomске. Mnoga istraživanja upućuju na to da bobičasto voće uzgojeno bez pesticida i gnojiva, u sjevernim klimatskim predjelima sadrži veće količine polifenola od onih koje rastu u

umjerenom klimatskom pojasu. Dakle, što je biljka izloženija stresu sadrži veću količinu polifenola. Utvrđeno je da stupanj zrelosti također utječe na količinu i polifenola. Što je biljka zrelija povećava se udio antocijanina, a smanjuje udio fenolnih kiselina (Kondakova i sur., 2009.).

Kao sljedeći čimbenik nameće se tehnologija prerade pa tako niže koncentracije antocijanina u sokovima mogu biti uzrokovane procesima klarifikacije ili pasterizacije (Tolić i sur., 2015.). Očuvanje antocijanina je bitno zbog održavanja boje proizvoda. Stabilnost antocijanina, a samim time boje proizvoda ovisna je o kemijskom sastavu proizvoda, pa se tako npr. povećanom metilacijom i glikozilacijom povećava njihova stabilnost. Pozitivan utjecaj na očuvanje boje ima i kopigmentacija tj. stvaranje kompleksa antocijana sa proteinima, drugim flavonoidima i polisaharidima koji su u tom obliku manje podložni degradaciji uzrokovanoj promjenom pH vrijednosti. Povišena temperatura, prisutnost kisika mogu dovesti do razgradnje antocijanina i stvaranja smeđih produkata (Kopjar, 2015.). Potrebno je obratiti pozornost na prethodno navedene parametre prilikom pakiranja u ambalažu i skladištenja gotovog proizvoda.

2.2.2. Vitamini

Vitamini su komponente koje ljudski organizam ne može sintetizirati, pa ih je potrebno unositi putem hrane. Njihova uloga je vezana za metabolizam tj. katalitičke procese. Na njihov sadržaj u namirnici utječe mnoštvo čimbenika, stoga treba pažljivo pristupiti čuvanju i obradi namirnice kako bi se vitamini zadržali u što većoj koncentraciji (Mandić, 2007.).

Aronija se po sadržaju vitamina odlikuje raznolikošću što je vidljivo iz **Tablice 3**. Vitamini B skupine (B1, B2, B6, niacin) kao i askorbinska kiselina zastupljeni su u najvećim količinama u svježe iscjeđenom soku dobivenom u laboratorijskim uvjetima. U industrijski proizvedenom pasteriziranom soku nije pronađen vitamin C što ukazuje na probleme njegovog očuvanja prilikom procesiranja. U svježim bobicama su pronađeni tokoferoli, vitamin K i β -karoten koji se još naziva i provitaminom vitamina A zbog svojstva pretvaranja u vitamin A prema potrebama organizma. Analizom je utvrđeno da je β -karoten prisutan u količini od 7700 $\mu\text{g kg}^{-1}$ i 16700 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Kulling i Rawel, 2008.).

Tablica 3 Sadržaj vitamina u bobicama, neprerađenom i prerađenom soku aronije
(Kulling i Rawel, 2008.)

Vitamin	Bobice ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Svježe iscjeđeni sok ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pasterizirani sok ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Vitamin C	137000	200000	nije detektiran
Folat	200	nije analiziran	35
Vitamin B1	180	500	nije analiziran
Vitamin B2	200	600	nije analiziran
Vitamin B6	280	550	nije analiziran
Niacin	3000	3400	nije analiziran
Pantotenska kiselina	2790	2200	nije analizirana
Tokoferoli	17100	nije analizirano	nije analizirano
Vitamin K	242	nije analiziran	nije analiziran

2.2.3. Minerali

Minerali su nosioci brojnih funkcija u živim organizmima. Sudjeluju u raznim biokemijskim reakcijama i time osiguravaju normalan rad staničnog metabolizma i tkiva. Izgrađuju tkiva, dio su hormona i enzima, sudjeluju u kontrakciji mišića i održavanju acido-bazne ravnoteže (Sikorski, 2007.).

Utvrđeno je da sadržaj mineralnih tvari u bobicama prema udjelu pepela iznosi 4400 mg kg^{-1} i 5800 mg kg^{-1} . Ukoliko se promatraju elementi pojedinačno vidljiva je razlika u količini koje imaju svježe bobice i sokovi (**Tablica 4**). Bobice vode u sadržaju gotovo svih analiziranih minerala osim u količini kalija koji je u većoj količini pronađen u svježe iscjeđenom soku. Kada se usporede sokovi može se zaključiti da pasterizirani sadrže više kalcija i magnezija. Od svih analiziranih minerala, kalij je prisutan u najvećoj količini u sva tri uzorka (Kulling i Rawel, 2008.).

Tablica 4 Sadržaj mineralnih tvari u bobicama, neprerađenom i prerađenom soku
(Kulling i Rawel, 2008.)

Mineral	Bobice (mg kg⁻¹)	Svježe iscjeđeni sok (g L⁻¹)	Pasterizirani sok (g L⁻¹)
Natrij	26	5	5,7
Kalij	2180	2850	1969
Kalcij	322	150	185
Magnezij	162	140	160
Željezo	9,3	4	0,4
Cink	1,47	1,3	0,6
Jod	nije analiziran	nije analiziran	<5

2.3. ZDRAVSTVENI ASPEKTI KONZUMACIJE ARONIJE

Mnoga istraživanja upućuju na to da aronija prema kemijskom sastavu ima potencijalno pozitivno djelovanje na ljudski organizam. Polifenolne komponente su naglašene kao najodgovornije za brojne biološke aktivnosti poput antioksidacijske, antimutagene, kardioprotektivne, antikancerogene, antihiperglikemijske (Kokotkiewicz i sur., 2010.).

U sljedećim odjeljcima su opisana antioksidacijska svojstva zajedno sa postojećim analizama brojčane procjene antioksidacijskog i antiradikalnog kapaciteta. Također će naglasak biti stavljen na djelovanje aronije u prevenciji i kontroli raznih bolesti.

2.3.1. Antioksidacijska svojstva

Antioksidansi su spojevi koji imaju utjecaj na oksidaciju nekog supstrata na način da inhibiraju ili odgađaju njegovu oksidaciju. Njihova uloga u ljudskom organizmu je vrlo bitna jer svojom aktivnošću mogu spriječiti razvoj nekih bolesti. Većina antioksidacijskih komponenata je prisutna u namirnicama biljnog podrijetla, prvenstveno voću i povrću (Jakobek, 2007.).

Slobodni radikali su vrlo reaktivne molekule koje sadrže nespareni elektron u vanjskoj elektronskoj ljusci zbog čega ulaze u reakcije s raznim molekulama nastojeći im uzeti elektron kako bi postigli stabilnost. Međutim, time može doći do niza drugih nepoželjnih reakcija (Jakobek, 2007.). Kao reaktivne tvari navode se singletni kisik, hidroksilni radikal, hidroperoksidni radikal, vodikov peroksid, lipidni radikali i drugi. Kada u organizmu dođe do narušavanja ravnoteže između oksidativnog oštećenja i antioksidativne reparacije dolazi do oksidativnog stresa što pogoduje mutagenezi, karcinogenezi, starenju stanica i oštećenju DNA, te samim time utječe na razvoj mnogih bolesti (Kazazić, 2004.).

Antioksidansi u obrani od oksidativnog stresa mogu djelovati na više načina. Jedan od njih je vezanje iona metala tj. helacija metala koji u oksidacijskim reakcijama djeluju kao katalizatori. Od polifenolnih komponenti antocijanini mogu djelovati na ovaj način (Jakobek, 2007.). Sljedeći način djelovanja antioksidansa je hvatanje slobodnih radikala čime se postiže neutralizacija i stabilizacija radikala doniranjem elektrona. Smatra se da flavonoidi mogu

sudjelovati u reakcijama hvatanja slobodnih radikala, pri tome nastaje flavonoidni fenoksidni radikal koji ne potiče daljnje lančane reakcije. Ovaj način obrane se još naziva i antiradikalna aktivnost. Antioksidacijski učinak postiže se i prilikom interakcija flavonoida i drugih molekula kao što su vitamini. Sinergistički učinak je primjećen u međudjelovanju vitamina C i kvercetina, te α -tokoferola i nekih polifenolnih spojeva (Kazazić, 2004.).

2.3.1.1. Procjena antioksidacijske aktivnosti

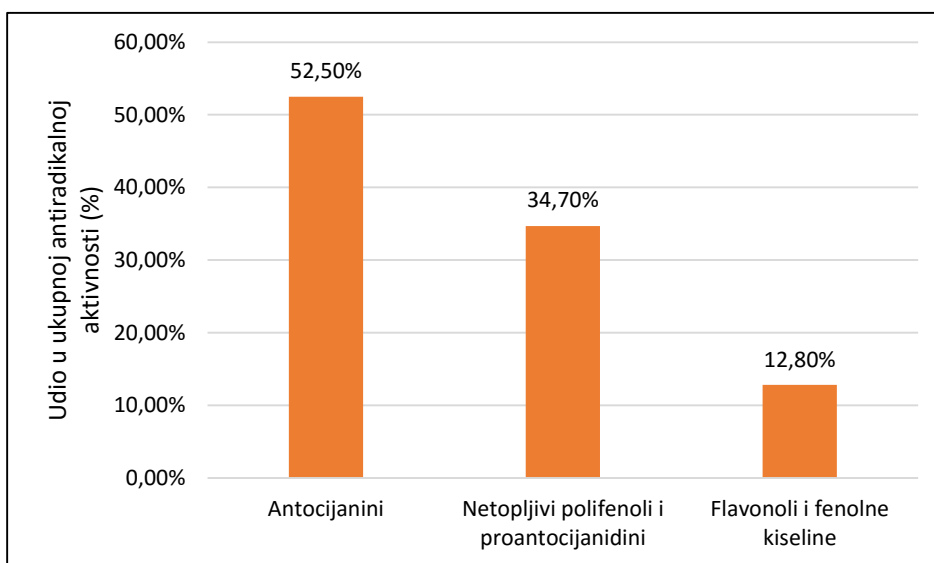
Mnoga istraživanja upućuju na visoku antioksidacijsku aktivnost aronije. U **Tablici 5** prikazani su rezultati dobiveni s dvije različite metode prema kojima je aronija u usporedbi s drugim ispitivanim bobičastim voćem nositelj najveće antioksidacijske aktivnosti. Obije metode (DPPH i ABTS) se temelje na sposobnosti antioksidansa da djeluju kao „hvatači“ slobodnih radikala. Visok udio polifenola, kao i njihove interakcije s drugim antioksidansima pridonose ovako visokim vrijednostima (Jakobek, 2007.).

Tablica 5 Antioksidacijska aktivnost različitog voća dobivena uz pomoć DPPH i ABTS metode (Jakobek, 2007.)

Vrsta voća	DPPH ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$)	ABTS ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$)
Aronija	181,07	78,9
Borovnica	125,52	53,28
Crni ribiz	109,89	44,67
Kupina	41,89	23,94
Višnja	29,49	23,74
Jagoda	6,11	12,08

Uspoređujući antioksidacijski kapacitet kod prerađevina od aronije, ustanovljeno je da najsnažnije antioksidacijsko djelovanje posjeduju sušene bobice, slijedi ih čajna mješavina (osušeni i samljeveni ostatak od proizvodnje soka) i prah. Za sokove su utvrđene niže vrijednosti vjerojatno kao posljedica utjecaja pasterizacije i temperature skladištenja (Tolić i sur., 2015.).

U ukupnoj antiradikalnoj aktivnosti bobica aronije najviši udio zauzimaju antocijanini, slijede ih netopljivi polifenoli i proantocijanidini što je vidljivo iz grafičkog prikaza (**Slika 4**). Velike količine proantocijanidina i antocijanina s obzirom na ukupne polifenole i visoka antiradikalna aktivnost antocijanina su u korelaciji s visokim udjelima u ukupnoj antiradikalnoj aktivnosti. Flavonoli i fenolne kiseline su na zadnjem mjestu. Flavonoli su prisutni u maloj količini u odnosu na druge fenolne komponente, stoga ne iznenađuje niski udio u ukupnoj antiradikalnoj aktivnosti (Krivak, 2010.).



Slika 4 Udio pojedinih polifenolnih komponenata u ukupnoj antiradikalnoj aktivnosti (Krivak, 2010.)

Iako antocijanini zbog velike količine u kojoj su prisutni zauzimaju najveći udio u antiradikalnoj aktivnosti, proantocijanidini su učinkovitiji „hvatači“ slobodnih radikala (Jakobek i sur., 2008.).

2.3.2. Utjecaj na specifična zdravstvena stanja

Konzumacija aronije i prerađevina se povezuje uz pozitivne učinke na ljudski organizam. Izvršena su brojne studije u svrhu istraživanja njenih antikancerogenih, kardioprotektivnih i antidijabetskih svojstava (Kulling i Rawel, 2008.).

U sljedećim odjeljcima će biti opisan utjecaj konzumacije soka i drugih prerađevina aronije na specifične dijelove fiziologije ljudskog sustava s obzirom na svojstvo koje se ispituje.

2.3.2.1. Aronija i bolesti srca i krvožilnog sustava

Kardiovaskularne bolesti predstavljaju vodeći uzrok smrti u svijetu. Nepravilna prehrana i fizička neaktivnost mogu dovesti do pretilosti koja je uz prekomjernu konzumaciju alkoholnih pića i pušenje jedan od glavnih rizičnih faktora za razvoj ovakvih bolesti. Bitni pokazatelji razvoja kardiovaskularnih bolesti mogu biti povećani krvni tlak, visoke razine glukoze i lipida u krvi (WHO, 2016a.).

U svrhu ispitivanja utjecaja aronije na razvoj kardiovaskularnih bolesti najčešće se promatra razina lipida u krvi. U istraživanju provedenom na miševima koji su uz komercijalno dostupnu hranu dobivali sok ili prah od aronije 60 dana imaju niži ukupni kolesterol, trigliceride i LDL-kolesterol u odnosu na one čija prehrana ne uključuje sok ili prah. Također je primjećeno da miševi kod kojih je inducirana povišena razina kolesterola svakodnevnim unosima otopine kolesterola imaju aterogeni indeks veći za 50 % od miševa koji su uz to dobivali sok od aronije (Nikolić, 2013.). Istraživanje provedeno na zdravim ljudima nakon tri tjedna konzumacije 250 mL soka dnevno ne pokazuje značajne promjene u razini lipida. Kod osoba kod kojih je prije početka konzumacije uočena povišena razina triglicerida uočeno je sniženje na normalnu razinu što zahtjeva daljnja istraživanja u svrhu potvrde zbog vrlo malog uzorka (Nowak i sur., 2016.).

Stanice endotela oblažu krvne žile te vrše funkcije od velike važnosti kao što su kontrola vaskularnog tonusa, inhibicija agregacije trombocita, moduliranje propusnosti vaskularne stijenke i mnoge druge. Endotelna disfunkcija je pokazatelj rizika izloženosti patološkim kardiovaskularnim promjenama (Čavka i sur., 2012.). Istraživanja ukazuju da konzumacija soka od aronije potencijalno može poboljšati rad stanica endotela (Nowak i sur., 2016.).

Ekstrakti aronije bogati flavonoidima pokazuju antihipertenzijska i vazoaktivna svojstva. Istraživanja na miševima oboljelim od hipertenzije pokazuju učinkovito, ali kratkotrajno sniženje sistoličkog tlaka (Denev i sur., 2012.). U terapiji kod osoba s povišenim krvnim tlakom koji su uz statin uzimali i ekstrakt aronije tijekom šest tjedana primjećeno je značajnije sniženje u odnosu na liječenje samim statinom. U životinjskim koronarnim arterijama je primjećeno direktno vazorelaksacijsko djelovanje, kao i zaštitno djelovanje od gubitka sposobnosti relaksacije kada je izravno djelovanje nemoguće (Kokotkiewicz i sur., 2010.).

2.3.2.2. Aronija i dijabetes

Dijabetes je bolest uzrokovana nemogućnošću organizma da iskoristi ili da proizvede inzulin u dostatnoj količini. Kao posljedica toga povisuje se razina šećera u krvi tj. nastupa hiperglikemija. Dijabetes tipa 1 se najčešće pojavljuje kod djece i zahtijeva svakodnevni unos inzulina, dok se dijabetesa tipa 2 obično pojavljuje kod odraslih osoba, često kao rezultat fizičke neaktivnosti i prekomjerne tjelesne mase. Dijabetes uzrokuje promjene u organizmu koje mogu dovesti do oštećenja srca i krvnih žila, otkazivanja bubrega, gubitka vida i u konačnici smrti (WHO, 2016b.).

Svjetska zdravstvena organizacija ukazuje na brzi porast oboljelih pa je tako u 2014. godini zabilježeno čak 422 milijuna ljudi s dijabetesom. Češće se pojavljuje dijabetes tipa 2 stoga je bitno istaknuti preventivne mjere koje mogu uvelike utjecati na njegov nastanak. Podizanje svijesti ljudi o zdravom načinu života, uključujući fizičku aktivnost i uravnoteženu prehranu jedan je od glavnih ciljeva (WHO, 2016b.).

Brojna istraživanja pokazuju utjecaj aronije na razinu glukoze u krvi u svrhu prevencije i kontrole dijabetesa tipa 2. Miševi kod kojih je dijabetes izazvan aloksanom dobivali su šest tjedana sok od aronije i pri tome je zamijećen efekt sniženja razine glukoze u krvi za više od 42 % (Oprea i sur., 2014.). Ekstrakt lišća aronije se također pokazao djelotvornim pri snižavanju glukoze u krvi i kod zdravih i kod oboljelih miševa. Djelovanje ekstrakta se temelji na stimulaciji stanica PC 12 i L 929 pri iskorištavanju glukoze u sličnim koncentracijama kao i prirodni inzulin (Maslov i sur., 2002.).

Kod ljudi oboljelih od dijabetesa koji ne uzimaju sintetizirani inzulin konzumacija 200 mL soka aronije dnevno tijekom tri mjeseca može smanjiti brzinu rasta glukoze u krvi. Pokazalo se pozitivno djelovanje aronije na glikirani hemoglobin (HbA1c), odnosno podskupinu hemoglobina koje će biti više ukoliko je koncentracija glukoze u krvi veća (Simenov i sur., 2002.).

Moguće antidijabetsko djelovanje aronije se može ostvariti mehanizmima smanjenja maltazne i invertazne aktivnosti u tankom crijevu, poticanjem iskorištavanja glukoze ili izlučivanja inzulina te smanjenjem oksidativnog stresa (Kokotkiewicz i sur., 2010.).

2.3.2.3. Aronija i karcinom

Karcinom je glavni uzročnik smrti u svijetu. Tome u prilog idu podaci Svjetske zdravstvene organizacije koji pokazuju da je samo 2012. godine 8,2 milijuna ljudi umrlo od posljedica raka. Ova nepredvidljiva bolest nastaje transformacijom normalne stanice u tumorsku i njenim nekontroliranim umnažanjem. Stanice karcinoma mogu izvršiti invaziju na organe tj. metastazirati. Najčešće su zahvaćena pluća, zatim jetra, želudac, debelo crijevo i grudi (WHO, 2015.).

Jedan od načina prevencije karcinoma je promjena prehrambenih navika što se između ostalog odnosi na povećanje unosa voća i povrća koje sadrže vrijedne komponente koje mogu pomoći u borbi protiv stanica karcinoma. Jedni od tih komponenata su flavonoidi čije je potencijalno antikancerogeno djelovanje potvrđeno znanstvenim dokazima. Interakcijom flavonoida s enzimima faze I zaustavlja se aktivacija potencijalnih karcinogena u fazi inicijacije. Pokazuju i antiproliferacijska svojstva inhibirajući prooksidativne procese odgovorne za rast tumora. Antikancerogeni učinak ostvaruje se i uplitanjem pojedinih flavonoida u stanični ciklus tumorskih stanica ili eliminiranjem nepoželjnih stanica odnosno izazivanjem apoptoze (Ren i sur., 2003.).

Istraživanje provedeno s ekstraktom bogatim antocijaninima koji je izoliran iz aronije pokazuje inhibicijski učinak na rast humanih stanica karcinoma debelog crijeva HT-29. Ovakvo djelovanje je ostvareno blokiranjem određenih faza staničnog ciklusa. Broj stanica se nije povećavao tijekom izloženosti ekstraktu što ukazuje na citostatičko djelovanje. Primjenom istog ekstrakta na zdrave stanice nisu primjećene značajnije promjene. Studija je

također pokazala da ekstrakt dobiven iz aronije ima jače prethodno opisano inhibitorno djelovanje od ekstrakata izoliranih iz grožđa i borovnice (Malik i sur., 2003.).

Ekstrakt aronije primjenjen u procesu antitumorske kemoterapije pospješuje djelovanje gemcitabina, citotoksičnog pripravka koji se koristi u liječenju raka gušterače. Ovakvo djelovanje je ustanovljeno na ljudskim stanicama gušterače AsPC-1 (Thani i sur., 2014.).

Ustanovljeno je moguće antiproliferacijsko djelovanje izoliranih glikozida cijanidina na ljudske stanice raka vrata maternice. Ekstrakt korišten u terapiji je sadržavao 67,1 % cijanidin-3-galaktozida, 24,3 % cijanidin-3-arabinozida, 5,8 % cijanidin-3-ksilozida i 2,6 % cijanidin-3-glukozida. Nakon 48 sati izloženosti HeLa stanica ekstraktu ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$) preživljavanje tumorskih stanica je smanjeno za 40 % (Rugină i sur., 2012.).

Zbog utvrđivanja povezanosti oksidativnog stresa s nastankom karcinoma dojke provedeno je istraživanje u kojem su praćene promjene na proteinima trombocita (tiolne grupe, karbonilne grupe). Uzete su stanice od tri skupine pacijenata: s benignim tumorom, zdravih (kontrolna grupa) i s invazivnim tumorom. Rezultati su potvrdili da su promjene na proteinima uzrokovane oksidativnim stresom povezane s rakom dojke. Utvrđeno je da ekstrakt aronije može utjecati na smanjivanje promjena na proteinima kod stanica pacijenata s benignim i invazivnim tumorom dojki u smislu oksidacije tiola što ukazuje na njegova protektivna svojstva (Kedzierska i sur., 2010.).

2.3.3. Aronija kao funkcionalna hrana

U današnje vrijeme uz sjedilački način života većine ljudi, pa i prehrambene navike u skladu s tim („brza hrana“, povećan unos masti i jednostavnih šećera) vode do povećanog rizika razvoja raznih bolesti. Stoga se promovira preveniranje bolesti odnosno hrana koja pomaže u očuvanju zdravlja. Uključivanje funkcionalne hrane u „prehrambeni tanjur“ može biti jedan od poteza prilikom promjene prehrambenih navika.

Unatoč postojanju brojnih definicija funkcionalne hrane, ne postoji jedinstvena kojom je obuhvaćeno sve što ona predstavlja. Između ostalog, zadatak ove hrane s biološki aktivnim djelovanjem je sprječavanje bolesti, te poboljšanje psihičkog i fizičkog zdravlja tj. blagotvorni učinak u količini koja se unosi normalnom prehranom. Funkcionalni proizvodi mogu biti prirodni, poboljšani, fortificirani, obogaćeni, izmijenjeni, s komponentama koje su

modificirane kemijskim putem ili s povećanom bioraspoloživosti jedne ili više komponenata (Čačić Kenjeric, 2016.).

S obzirom na područja ljudske fiziologije na koje komponente funkcionalne hrane mogu djelovati aronija može biti uključena u obranu organizma od oksidativnog stresa najviše zahvaljujući prisutnosti polifenolnih spojeva. Kako je oksidativni stres rizični čimbenik u razvoju mnogih bolesti preporuča se konzumacija namirnica koje su prirodni izvor antioksidativnih komponenata (Nowak i sur., 2016.).

Zbog svojih nutritivnih svojstava aronija se svrstava i u kategoriju „super voća“ (eng. superfruits) zajedno s borovnicom, kupinom, goji bobicama, brusnicom i drugim. Zahvaljujući tome aronija dobiva marketinški prostor i približava se ljudima (Kolobarić, 2014.).

3. ZAKLJUČAK

Temeljem podataka pronađenih u literaturi i iznesenih u ovom radu može se zaključiti slijedeće:

- Aronija je biljka iz porodice Rosaceae, najznačajnija vrsta je *Aronia melanocarpa*.
- U ljudskoj prehrani se koristi svježa i prerađena u brojne oblike kako bi organoleptički bila prihvatljivija konzumentima, a njezin ekstrakt se koristi i kao prirodno bojilo.
- Niske je energetske, a visoke nutritivne vrijednosti. Karakterizira ju visok sadržaj vitamina (osobito vitamin C i vitamini B kompleksa), minerala (u najvećoj količini prisutan kalij) i fitonutrijenata.
- Kao najvažniji konstituenti nameću se polifenoli. U najvećoj količini su pronađeni proantocijanidini, zatim antocijanini (u obliku cijanidina) i fenolne kiseline (klorogenska i neoklorogenska kiselina) te u manjim količinama flavonoli (derivati kvercetina).
- Sadržaj polifenolnih komponenti ovisan je o brojnim čimbenicima od kojih je moguće utjecati na uvjete uzgoja, prerade i skladištenja.
- Zahvaljujući snažnoj antioksidacijskoj aktivnosti aronija može imati potencijalno pozitivne učinke na zdravlje korištenjem u preventivne svrhe ili kao pomoćno sredstvo u liječenju bolesti. Potrebno je provesti dodatna istraživanja kako bi se ustanovilo njeno pravo djelovanje u ljudskom organizmu.

4. LITERATURA

Čačić Kenjeric D: Funkcionalna hrana i dodaci prehrani, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2016.

http://studenti.ptfos.hr/Prediplomski_studij/Funcionalna_hrana/Predavanja

[12.08.2016]

Čavka A, Tadžić R, Grizelj I, Unfirer S, Mihaljević Z, Mihalj M, Manojlović D, Drenjančević I: Endotelna funkcija – funkcionalni pokazatelj kardiovaskularnih rizičnih čimbenika. *Medicinski Vjesnik* 44(1-4):135-146, 2012.

Denev P, Kratchanov CG, Ciz M, Lojek A, Kratchanova MG: Bioavailability and antioxidant activity of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols: in vitro and in vivo evidences and possible mechanisms of action: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11: 471-489, 2012.

Jakobek L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Henry CJK, Heppell NJ: *Nutritional aspects of food processing and ingredients*, Aspen Publication, Gaithersburg, 1998.

Kazazić SP: Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 55:279-290, 2004.

Kedzierska M, Olas B, Wachowicz B, Stochmal A, Oleszek W, Jeziorski A, Piekarski J: The nitrative and oxidative stress in blood platelets isolated from breast cancer patients: The protectory action of aronia melanocarpa extract. *Platelets* 21(7):541-548, 2010.

Kokotkiewicz A, Jeremicz Z, Luczkiewicz M: Aronia plants: A review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food* 13(2):255-269, 2010.

Kolobarić S: Aronija – voće sadašnjosti i budućnosti. *Zdrav život, obiteljski časopis o zdravlju* 125/2014.

- Kondakova V, Tsvetkov I, Batchvarova R, Badjakov I, Dzhambazova T, Slavov S: Phenol compounds – qualitative index in small fruits. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 23(4):1444-1448, 2009.
- Kopjar M: Kemija hrane, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2016.
http://studenti.ptfos.hr/Prediplomski_studij/Kemija_hrane/predavanja-2015-2016/
[02.08.2016.]
- Krivak P: Utjecaj različitih polifenolnih spojeva prisutnih u aroniji na njezinu antiradikalnu aktivnost. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2010.
- Kullig SE, Rawel HM: Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Medica* 74(13):1625-1634, 2008.
- Lupascu N, Cadar E, Cherim M, Erimia CL, Sirbu R: Research concerning the efficiency of *Aronia melanocarpa* for pharmaceutical purpose. *European Journal of Interdisciplinary Studies* 4(1):115-121, 2016.
- Malik M, Zhao C, Schoene N, Guisti MM, Moyer MP, Magnuson BA: Anthocyanin-rich extract from *Aronia melanocarpa* E. induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. *Nutrition and Cancer* 46:2, 186-196, 2003.
- Mandić ML: *Znanost o prehrani*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2007.
- Maslov DL, Prozorovskii TV, Ipatova OM, Abakumova O, Tsvetkova TA, Prozorovskii VN: Stimulation of glucose uptake in PC 12 and L 929 cells by extracts from *Aronia melanocarpa*. *Voprosy meditsinskoj khimii* 48(2):196-200, 2002.
- Nikolić L: Antihiperlipidemijski učinak *Aronia melanocarpa* u C57BL miša. *Završni rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2013.
- Nowak D, Grąbczewska Z, Gośliński M, Obońska K, Dąbrowska A, Kubica J: Effect of chokeberry juice consumption on antioxidant capacity, lipids profile and endothelial function in healthy people; a pilot study. *Czech journal of food science* 34(1):39-46, 2016.

- Oprea E, Manolescu BN, Fărcășanu IC, Mladin P, Mihele D: Studies concerning antioxidant and hypoglycemic activity of *Aronia melanocarpa* fruits. *Farmacia* 62:254-263, 2014.
- Oszmiański J, Wojdyło A: *Aronia melanocarpa* Phenolics and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology* 221:809-813, 2005.
- Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L: Flavonoids: Promising anticancer agents. *Medicinal Research Reviews*, 23(4):519-534, 2003.
- Rugină D, Sconța Z, Leopold L, Pinteș A, Bunea A, Socăciu C: Antioxidant activities of chokeberry extracts and the cytotoxic action of their anthocyanin fraction on HeLa human cervical tumor cells. *Journal of Medicinal Food*. 15(8):700-706, 2012.
- Sikorski ZE: *Chemical and functional properties of food components*. Third Edition. Taylor & Francis, 2007.
- Simeonov SB, Botushanov NP, Karahanian EB, Pavlova MB, Husianitis HK, Troev DM: Effects of *Aronia melanocarpa* juice as part of the dietary regimen in patients with diabetes mellitus. *Folia Med (Plovdiv)* 44(3):20-23, 2002.
- Siroglavić M: Aronija (*Aronia melanocarpa* /Michx./ Elliot) - rasprostranjenost, morfologija i biologija. *Završni rad*. Šumarski fakultet, Zagreb, 2015.
- Thani NA, Keshavarz S, Lwaleed BA, Cooper AJ, Rooprai HK: Cytotoxicity of gemcitabine enhanced by polyphenolics from *Aronia melanocarpa* in pancreatic cancer line AsPC-1. *Journal of Clinical Pathology* 67(11):949-954, 2014.
- Tolić MT, Landeka Jurčević I, Panjkota Krbavčić I, Marković K, Vahčić N: Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Food Technology and Biotechnology* 53(2):171-179, 2015.
- Webb GP: *Dietary supplements and functional foods*. Blackwell Publishing, 2006.
- World Health Organisation: Cancer, 2015.,
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> [12.08.2016.]

World Health Organization: Cardiovascular diseases (CVDs), 2016a.,
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> [09.08.2016.]

World Health Organization: Diabetes, 2016b.,
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/> [11.08.2016.]

